Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel
Pharmazeutische Abteilung

Versuch einer Interpretation des Reaktionsmechanismus der durch Liberationsvorgänge ausgelösten entzündlichen Hautreaktion

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
HENRI JAQUET
von St-Imier, Bern

1962

Basel 1963

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0099

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel
Pharmazeutische Abteilung

Versuch einer Interpretation des Reaktionsmechanismus der durch Liberationsvorgänge ausgelösten entzündlichen Hautreaktion

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
HENRI JAQUET
von St-Imier, Bern

Basel 1963

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter Leitung von
Herrn Prof. Dr. med., Dr. phil. h.c. *Rolf Meier*,
dem ich für sein Interesse und seine grosszügige Förderung meinen besten
Dank ausspreche.

Von der Medizinischen Fakultät genehmigt
auf Antrag von Herrn Professor Dr. med., Dr. phil. h.c. *R. Meier*

Tag der Promotion: 30. Januar 1962

Sonderdruck aus: Arch. Int. Pharmacodyn. *144*, 161-184, 1963

Herrn Dr. med. Roland Jaques, der diese Arbeit mit seinen wertvollen Ratschlägen und seiner reichen Erfahrung wohlwollend unterstützte, danke ich herzlich.

Auch Herrn Dr. Heinz Majer und Herrn P.D. Dr. Walter Stamm bin ich für praktische Hinweise bei der Berechnung und statistischen Bewertung der Ergebnisse zu Dank verpflichtet.

AUS DEN FORSCHUNGSLABORATORIEN DER CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, BASEL, PHARMAZEUTISCHE ABTEILUNG

VERSUCH EINER INTERPRETATION DES REAKTIONSMECHANISMUS DER DURCH LIBERATIONSVORGÄNGE AUSGELÖSTEN ENTZÜNDLICHEN HAUTREAKTION

With Summary

VON

H. JAQUET (1)

(Eingegangen am 4-7-1962).

Für eine analytische Beurteilung des oder der an einer lokalen „Entzündungsreaktion" beteiligten Faktoren stehen mehrere Wege offen. Das optimale Vorgehen wäre naturgemäss der quantitative spezifische Nachweis der Wirkstoffe am Ort der Lokalreaktion. Dieses direkte Verfahren lässt sich für einzelne Komponenten wohl anwenden, ist aber besonders für Gemische derartiger Wirkstoffe aus technischen Gründen äusserst schwierig. Andererseits ist ein solches Vorgehen ohne Berücksichtigung der Dynamik des Reaktionsablaufes nicht ohne weiteres geeignet, die Frage nach der Herkunft solcher aktiver Komponenten zu beantworten.

Für die Analyse kann man sich aber auch indirekter Methoden bedienen. Hierfür kommen vor allem die folgenden in Betracht :

1. Der Vergleich einer bestimmten, durch Liberation endogener Wirkstoffe ausgelösten Reaktion mit einer Reaktion, die unter vergleichbaren Verhältnissen durch verschiedene der möglichen, exogen zugeführten Mediatoren oder Gemische derselben ausgelöst wird.

2. Die Feststellung der Wirkung einer Anzahl Antagonisten sowohl auf die Testreaktion wie auch vergleichend auf die durch verschiedene Mediatoren ausgelöste Reaktion.

3. Der Vergleich der obengenannten Reaktionen an verschiedenen Testobjekten und verschiedenen Tierarten.

(1) Jetzige Adresse: The J. Hillis Miller Health Center, Department of Nicrobiology, University of Florida. *Gainesville* (Florida) U.S.A.

Solche Vergleiche ermöglichen es, die Beteiligung von einzelnen Komponenten an einem komplexen Geschehen abzuschätzen [20].

Zur Erzeugung der lokalen Entzündungsreaktion wurden verschiedene Substanzen wie Dextran, Ovomucoid, Formalin, Thalassin, Compound 48/80 [8–11, 16, 42, 46] etc. verwendet und vorzugsweise in die Haut (Pfoten-, Bauch- oder Rückenhaut) gebracht. Unter den Laboratoriumstieren scheint die Ratte für das Studium solcher lokaler Entzündungsvorgänge besonders geeignet, weil das gewählte Erfolgsorgan (Haut) die in Frage kommenden Mediatoren reichlich enthält.

Indem die Wirkung und die pharmakodynamische Beeinflussbarkeit von exogen zugeführten Mittlersubstanzen wie Histamin oder Serotonin an der Haut mit dem Verhalten nach lokaler Applikation von indirekt wirkenden Substanzen verglichen werden, kann die relative Bedeutung endogener Mediatoren für die wohl über einen Liberationsmechanismus zur „Entzündung" führenden Substanzen abgeschätzt werden. Neben Histamin und Serotonin, die vornehmlich in der akuten Phase der Entzündungsreaktion von Bedeutung sind, treten im späteren Verlauf peptidartige Wirkstoffe mit zum Teil bradykininähnlicher Charakteristik auf [2, 7, 21, 36, 37].

Die Literatur enthält eine Reihe von Anhaltspunkten über die Verwendung von Antagonisten zur Charakterisierung der Komponenten entzündlicher Reaktionen in der Haut. Da dem Histamin in der Frühphase des Entzündungsprozesses eine wesentliche Rolle zugeschrieben wird, wurden Antihistaminica (Halpern [12], Bovet *et al.* [4]) verwendet, um die Bedeutung dieses Amins beim akuten Entzündungsverlauf abzugrenzen. Dabei wird allerdings vorausgesetzt, dass diese Substanzen Histamin nur spezifisch antagonisieren. Dies trifft wohl nicht für jedes sogenannte Antihistaminicum zu.

Ovary [26–28], der eine sehr empfindliche Methode zum Nachweis von Antikörpern auf Grund ihres Effektes bei der passiven cutanen Anaphylaxie (PCA) ausarbeitete, wies nach, dass Mepyramin (Neoantergan®) in einer als ausserordentlich hoch zu bezeichnenden Dosis von 50 mg/kg eine völlige Hemmung der Reaktion zur Folge hat. Brocklehurst *et al.* [5], die sich eingehend mit der Beteiligung von Histamin bei der PCA beschäftigt haben, stellten dagegen fest, dass Mepyramin in der von Ovary verwendeten Dosierung auf die PCA an der Ratte ohne Effekt ist, während die durch Compound 48/80 oder Histamin erzeugte Hautentzündung gehemmt wird. Die gleichen Autoren betrachteten auch die Wirkung anderer Antihistaminica wie die von Antistin und Phenergan als unspezifisch, da diese Substanzen erst in subtoxischen Dosen die PCA zu hemmen vermögen. Sie schliessen

daraus, dass Histamin in unbedeutendem Mass daran beteiligt ist, und dass Antigen-Antikörperkomplexe eine Entzündungsreaktion auf qualitativ andere Art als die Histaminliberatoren auslösen. Es ist weiterhin von Interesse, dass trotz Herabsetzung der cutanen Konzentration von Histamin oder 5-Hydroxytryptamin durch Compound 48/80 respektive durch Reserpin eine PCA unbeeinflusst bleibt [6].

HALPERN *et al.* [13] beobachteten eine kompetitive Hemmung der durch Histamin oder Compound 48/80 erzeugten Permeabilität der Hautkapillaren durch Promethazin (Phenergan®); nach diesen Autoren spielt Histamin bei der PCA eine unwesentliche Rolle, da Promethazin keine kompetitive Hemmung dieser Reaktion bewirkte.

LIACOPOULOS *et al.* [19] bemühten sich, die Spezifität von Antagonisten durch ihren Effekt auf einzelne der in Frage kommenden endogenen Mediatorsubstanzen zu charakterisieren. Mepyramin ist in bezug auf die an der Haut ablaufenden Reaktion als spezifischer Histaminantagonist anzusehen, da es ohne Einfluss auf die durch 5-Hydroxytryptamin ausgelöste Reaktion ist. Promethazin übertrifft die hemmende Wirkung von Mepyramin bei weitem, zeigt aber ähnlich wie an anderen Testobjekten auch auf 5-Hydroxytryptamin eine deutliche Hemmung. Beim Chlorpromazin überwiegt die Serotonin-antagonistische Wirkung gegenüber der Histamin-antagonistischen; LSD_{25} schliesslich besitzt nach den genannten Autoren nur spezifische Serotonin-antagonistische Eigenschaften.

Die auf intracutane Applikation von Compound 48/80 erfolgende Hautreaktion wird durch die eben aufgeführten Substanzen qualitativ weder gleich wie die Histamin- noch wie die Serotoninreaktion beeinflusst. Von den gleichen Autoren wird angenommen, dass die durch Compound 48/80 erzeugte Hautreaktion auf eine gemischte Histamin- und Serotoninwirkung zurückzuführen sei.

ROWLEY und BENDITT [32] zeigten, dass Compound 48/80 eine entzündliche Hautreaktion mit gleichzeitiger Zerstörung der Mastzellen hervorruft. Histamin und 5-Hydroxytryptamin lösen eine äusserlich vergleichbare Hautentzündung ohne entsprechende Mastzellenveränderung aus. Trotzdem kann die durch Mastzellenzerstörung hervorgerufene Reaktion naturgemäss durch Histamin oder Serotonin bedingt sein. Durch Mepyramin konnten sie die auf Compound 48/80 erfolgende Reaktion im Gegensatz zu anderen Autoren (HALPERN) nicht hemmen, während sie mit Dibenamin eine etwa 50 %ige Hemmung erzielten. Durch Kombination von Mepyramin und Dibenamin erreichten sie eine völlige Hemmung der Wirkung von Compound 48/80, ohne jedoch die Mastzellenzerstörung verhindern zu können.

Die durch 5-Hydroxytryptamin ausgelöste Reaktion wird nach Benditt und Rowley [1] durch Dibenamin völlig gehemmt, während Mepyramin ohne Einfluss ist. Umgekehrt hemmt Mepyramin im Gegensatz zu Dibenamin erwartungsgemäss die durch Histamin ausgelöste Reaktion; eine dem Mepyramin vergleichbare Wirkung besass auch Tripelennamin (Pyribenzamin®).

Auch Sparrow und Wilhelm [35] haben die entzündliche Hautreaktion nach intradermaler Applikation von Compound 48/80 unter besonderer Berücksichtigung der dabei erhöhten Gefässpermeabilität untersucht. Dabei stellten sie fest, dass Mepyramin den Effekt von Compound 48/80 etwa gleich hemmt wie denjenigen von Serotonin, wobei die Flächenausdehnung der Lokalreaktion nicht beeinflusst, dagegen deren Farbintensität vermindert wurde. Die durch Histamin ausgelöste Hautreaktion hingegen konnte durch Mepyramin in beiden Richtungen völlig gehemmt werden. LSD_{25} hatte andereseits auf den Histamineffekt nur eine schwache antagonistische Wirkung, sowohl bezüglich Fläche wie auch bezüglich Farbintensität, während die durch Serotonin hervorgerufene Reaktion gesamthaft gehemmt wird. Die durch Compound 48/80 ausgelöste Reaktion wird durch LSD_{25} nur teilweise gehemmt. Auch in diesem Fall ergeben sich somit im Vergleich zu den Befunden anderer Autoren (Rowley und Benditt) teilweise widersprüchliche Ergebnisse, wobei die Diskrepanz möglicherweise auf die für die Beurteilung der Wirkung benutzten Kriterien zurückzuführen ist.

Parratt und West [29, 30] charakterisierten in ähnlicher Weise mit Hilfe von Antagonisten die Hautreaktion nach intradermaler Verabreichung von Compound 48/80. Diese wird durch 1 mg/kg BOL 148 (Bromlysergsäurediaethylamid) nur teilweise und durch Mepyramin erst mit einer 10 fach höheren Dosis gehemmt. Auf Grund des Vergleiches mit dem Antagonismus gegenüber der durch Histamin oder Serotonin erzeugten Kapillarpermeabilitätsstörung vermuten die Autoren, dass zugeführte Mediatoren schon durch niederere Dosen von Antagonisten beeinflusst werden können, freigesetzte endogene Mediatoren dagegen erst durch höhere.

Mörsdorf und Bode [23] untersuchten eine Reihe von entzündungshemmenden Substanzen in bezug auf ihre Wirkung nach Applikation von Serotonin. Sie fanden eine ausgesprochen starke Hemmung durch Chlorpromazin, eine schwächere dagegen nach Pyramidon und Acetylsalicylsäure. Als wirkungslos erwiesen sich Butazolidin und Na-Salicylat. Erstaunlicherweise war die Reaktion durch LSD_{25} und Ca-Glukonat nicht zu beeinflussen. Das Fehlen einer antagonistischen

Wirksamkeit von LSD_{25} ist möglicherweise auf die verwendete Versuchsanordnung beschränkt, indem MÖRSDORF und FEHRES [24] zeigen konnten, dass LDS_{25} die durch 5-Hydroxytryptamin hervorgerufene gesteigerte Gefässpermeabilität stark zu hemmen vermag, wenn das entzündliche Agens und der Antagonist simultan in die Haut appliziert werden. Im Gegensatz zu anderen Autoren (MÖRSDORF und BODE) konnte KELEMEN [17] mit Na-Salicylat eine ausgeprägte Hemmung einer Reaktion nach 5-Hydroxytryptamin feststellen.

Wird als Entzündungsmodell eine Versuchsanordnung gewählt, bei der der Austritt von Tusche in eine Histamin-Quaddel gemessen wird, so stellen KEWITZ und MORGAN [18] fest, dass eine Anreicherung von Tusche in der Quaddel nur durch gewisse Antihistamine wie Antistin, ähnlich wie auch durch gewisse Narcotica, gehemmt wird. Andere Antihistaminica, wie Thephorin oder Pyribenzamin, haben keinen entsprechenden Hemmeffekt. In Anlehnung an JANCSÓ [14] wird von den Autoren auch der Einfluss von Pharmaca auf die Kapillarendothelien und ihre Beteiligung an der veränderlichen Gefässpermeabilität diskutiert und versucht, eine Beziehung zu der Entzündungsreaktion zu finden.

Auf Grund dieser Literatur, die sich wegen der bekannten Speciesbedingten Unterschiede auf die Angaben der Lokalreaktion bei der in der vorliegenden Arbeit berücksichtigten Tierspecies Ratte beschränken, kann gesagt werden, dass die Verwendung von Antagonisten zur Differenzierung der biochemischen Ursachen der Lokalreaktion einzelne charakteristische Befunde ergibt. Besonders einfach lässt sich die spezifische Wirksamkeit bei exogen zugeführten Stoffen wie Histamin und Serotonin bestimmen. Widersprüchlich sind die Ergebnisse bei komplexeren Reaktionen wie bei den durch Compound 48/80 oder durch cutane Anaphylaxie ausgelösten Typen. Die bei diesen gefundenen Unterschiede beruhen zum Teil wohl auf der angewandten Untersuchungsmethode, z.B. sind die Bestimmung des Oedems und die der Farbstoffdurchlässigkeit keine gleichartigen Messgrössen. Die Beurteilung auf Grund der Anwendung von Antagonisten gibt nur dann die Möglichkeit zu weitergehenden Schlussfolgerungen, wenn eine grössere Serie derselben am gleichen Objekt mit der gleichen Methoden untersucht wird, und die Spezifität der Wirkung quantitativ und qualitativ als Folge des vom Wirkstoff getroffenen Antagonisten, am besten im gleichen Test nachgewiesen wird. In dieser Hinsicht weisen die Angaben der Literatur noch zahlreiche Lücken auf.

Methoden und Material

Als analytisches Vorgehen wurde einerseits der Vergleich der allergischen Hautreaktion mit der durch verschiedene Mediatoren ausgelösten oder der unter Beteiligung solcher Mediatoren zustandekommenden Reaktion und andererseits die Beeinflussung der verschiedenen Reaktionen durch eine Reihe von Antagonisten gewählt.

Als Vergleichsstoffe wurden folgende mögliche Mediatoren oder indirekt über Mediatoren wirkende Substanzen verwendet:

1) Serotonin.
2) Histamin.
3) Compound 48/80 (1).
4) Trypsin.
5) Bradykinin (2).

Die Auswahl der Antagonisten wurde relativ breit getroffen, um sowohl die pharmakologische Spezifität besser beurteilen zu können als auch noch wenig definierte Komponenten der Reaktion zu erfassen. Es handelt sich um folgende Wirkstofftypen:

1) Antihistaminica.
2) Serotoninantagonisten.
3) Antiphlogistica.
4) Analgetica.
5) Corticosteroide.
6) Ataractica.
7) Hypotensiva.
8) Cholinesterasehemmer.
9) Aminoxydasehemmer.
10) Anticoagulantien.
11) Flavone.

Entsprechend den vorstehenden Erwägungen wurde versucht, die Beteiligung verschiedener Mediatoren bei der passiv ausgelösten anaphylaktischen Lokalreaktion der Haut an der Ratte zu charakterisieren. Es erwies sich zunächst als notwendig, die verschiedenen Methoden zur quantitativen Bewertung der lokalen Hautreaktion zu überprüfen. In Anlehnung an Ungar *et al.* (43) wurde schliesslich eine Methode entwickelt, die eine für praktische Zwecke durchaus genügende Beurteilung ergibt.

Die entzündliche Lokalreaktion äussert sich in der akuten Phase vorwiegend als Oedem. Es wurde deshalb zu dessen quantitativer Messung prinzipiell folgendes Vorgehen gewählt: Das zur Auslösung einer Lokalreaktion benutzte Agens wurde intracutan injiziert. Nach einem den jeweiligen Erfordernissen und Besonderheiten des Versuches angepassten Zeitintervall wurden die Tiere getötet, die Hautstellen mit der Lokalreaktion ausgestanzt und sofort gewogen. Die Gewichtszunahme der Testseite gegenüber der Kontrollseite — einer analogen, mit physiol. NaCl-Lösung injizierten Stelle — diente als Mass für die Effekte verschiedener Substanzen und deren Beeinflussung durch Antagonisten verschiedenster pharmakodynamischer Charakteristik.

Im einzelnen galten die folgenden Versuchsbedingungen: Als Versuchstiere dienten männliche Albinoratten im Gewicht von 200 ± 10 g. Die Tiere wurden auf dem Rücken geschoren. Jedes Tier erhielt nur zwei intracutane Injektionen; eine Quaddel mit ent-

(1) Kondensationsprodukt von *p*-Methoxy-phenyl-aethyl-methylamin mit Formaldehyd der Wellcome Research Laboratories, Beckenham, England.

(2) Synthetisches Nonapeptid CIBA 28859-Ba.

Den Herren Prof. Dr. R. Schwyzer und Drs. H. Kappeler und B. Riniker sei für die Ueberlassung einer Versuchsmenge gedankt.

zündlich wirkendem Agens wurde in die Testseite und die andere mit pyrogenfreier physiol. NaCl-Lösung in die Kontrollseite gesetzt. Die Injektionen erfolgten auf der Höhe der Nierenloge in 20 mm Abstand beidseits von der Medianlinie. Dieser Hautbezirk erwies sich aus anatomischen Gründen als besonders günstig, da dort keine grösseren Gefässe vorhanden sind, die eine ausgelöste Reaktion in irgendwelcher Weise beeinflussen könnten.

Das Injektionsvolumen wurde, wenn im experimentellen Teil nicht speziell angegeben, einheitlich auf 0,05 ml festgesetzt. Da bei einer intracutanen Injektion ein relativ hoher Gegendruck (MILES und MILES, 22) zu überwinden ist, führte die Undichtigkeit sowohl der Spritze wie auch des Nadelansatzes zu Fehlern. Die Spritze wurde deshalb mit einem inerten Vacuumfett gedichtet, und die Nadel mit Hilfe eines Kautschuk-Kittes (Picein) mit dem Nadelansatz fest verbunden.

Um die entstandene Lokalreaktion sichtbar zu machen und in ihrem Umfang genauer abzugrenzen, wurde unmittelbar anschliessend an die intracutane Injektion Pontamine® Sky Blue (1 %ige Lösung) in einer Dosierung von 25,0 mg/kg in die Schwanzvene injiziert, was zu keiner Beeinflussung der Lokalreaktion führte. Zur Erleichterung der Injektionen befanden sich die Tiere in leichter Aethernarkose.

Das Zeitintervall bis zum Töten richtete sich nach den experimentellen Verhältnissen und war in den meisten Fällen 30 min. Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und nach Möglichkeit entblutet, um eine Hyperämie der Haut zu vermeiden.

Die Rückenhaut wurde mit dem Skalpell abpräpariert. und mit der Haarseite nach unten mit Stecknadeln auf einer Hartgummiunterlage befestigt. Um eine Spannungsänderung nach dem Ausstanzen zu verhindern, wurde die Haut auch in der Medianlinie mit Stecknadeln fixiert. Die Reaktionsstellen wurden mit einem Locheisen von 20 mm Durchmesser ausgestanzt. Die Fläche der ausgestanzten Hautstücke betrug 314 mm^2 und war immer grösser als die der entzündlichen Reaktion.

Die Hautstücke wurden gewogen und die Differenz zwischen Testseite und Kontrollseite ergab das Oedemgewicht in mg. Um eine bessere Vergleichsbasis zu gewinnen, als sie das absolute Gewicht des Hautstückes in mg darstellt, wurde der Effekt des reaktionsauslösenden Agens als Intensität I der Entzündung in % berechnet. Wird beim Kontrolltier, welches keinen Antagonisten erhalten hat, einerseits das Gewicht des Hautstückes, in das physiol. NaCl injiziert wurde, mit G_0, andererseits das Hautstück, in das ein reaktionsauslösendes Agens injiziert wurde, mit G bezeichnet, so ergibt sich aus

$$\frac{G - G_0}{G_0} \cdot 100 = \left(\frac{G}{G_0} - 1 \right) \cdot 100$$

die Entzündungsintensität I_0.

Beim Testtier, dem ein Antagonist appliziert wurde, wird das Gewicht des Hautstückes mit physiol. NaCl ebenfalls mit G_0, das mit dem reaktionsauslösenden Agens mit G_A bezeichnet und analog ergibt sich aus

$$\frac{G_A - G_0}{G_0} \cdot 100 \qquad \left(\frac{G_A}{G_0} - 1 \right) \cdot 100$$

die Entzündungsintensität I_A.

Aus der Entzündungsintensität I_0 beim Kontrolltier und I_A beim Testtier lässt sich der Effekt der Antagonisten als entzündungshemmende Aktivität A in % berechnen.

$$A = \frac{I_0 - I_A}{I_0} \cdot 100 = \left(1 - \frac{I_A}{I_0} \right) \cdot 100$$

Nach Ermittlung der Dosiswirkungskurve wurde zur Untersuchung der Beeinflussung durch Antagonisten für jedes Agens eine Konzentration mittlerer bis submaximaler Wirkung gewählt :

diese betrug für 5-Hydroxytryptamin : $5 \cdot 10^{-9}$ Mol
für Compound 48/80 : $1{,}5 \cdot 10^{-8}$ Mol
und für Histamin : $1{,}5 \cdot 10^{-7}$ Mol

Für jeden Antagonisten wurde pro Dosis der Durchschnittswert aus den Einzelwerten von 5–10 Tieren errechnet. Die Verabreichung der Antagonisten erfolgte unterschiedlich bezüglich Applikationsart und Einwirkungsdauer.

Neben einer durch chemisch definierte Substanzen ausgelösten Hautreaktion wurde auch eine allergisch bedingte Hautentzündung (passive cutane Anaphylaxie = PCA) auf ihre Beeinflussbarkeit durch Pharmaca untersucht. Als Antikörper dienten gegen Rinderserumalbumin (1) gerichtete Kaninchenseren in lyophilisiertem Zustand, enthaltend 816 bzw. 870 γ Antikörper-N/ml (2). Zur Kontrolle diente ein ebenfalls lyophilisiertes Serum von unbehandelten Kaninchen.

In die Testseite wurde das Antiserum injiziert, in die Kontrollseite Normalserum. 120 min nach intracutaner Applikation der Seren erhielten die Tiere 1 mg/kg Antigen intravenös und zur genaueren Abgrenzung der Lokalreaktion ebenfalls Pontamine(R) Sky Blue. Die Entzündungsreaktion wurde 60 min nach der Auslösung analog der oben beschriebenen Weise gemessen und beurteilt.

Ergebnisse

Die Untersuchung der in dieser Arbeit gestellten Probleme setzt voraus, dass die quantitativen Wirkungsverhältnisse der in Frage kommenden Mediatoren festgelegt werden. Es wurden deshalb Dosis-wirkungskurven von Histamin, Serotonin und von anderen Effektoren ermittelt und quantitativ ausgewertet.

I. *Quantitative Verhältnisse der Lokalreaktion in Abhängigkeit von der Dosis des auslösenden Agens*

A. *Dosis-Wirkungsbeziehungen*

In Fig. 1 sind die Wirkungen verschiedener Substanzen, bezogen auf molare Verhältnisse der verabreichten Dosen, dargestellt. Dabei kommt die im Vergleich zu Histamin erheblich grössere Wirksamkeit von Serotonin neben einer niedrigeren Schwellendosis vor allem in einer merklich steileren Dosis-Wirkungskurve zum Ausdruck.

Die im Zusammenhang mit der Problemstellung besonders eingehend untersuchte Substanz, Compound 48/80, besitzt eine „Intensität" (siehe Methodik, Seite 167), die der von Serotonin deutlich näher kommt als derjenigen von Histamin. Für Histamin stellen wir eine nur geringe

(1) Bovine serum albumin, Armour Pharmaceutical Company, Kankakee, Illinois, U.S.A.

(2) Für die Herstellung der Antiseren und die Bestimmung des Antikörper-N-Gehaltes danke ich Fräulein Marianne Imboden.

Intensität fest, die über den gleichen Konzentrationsbereich, wie für obige Substanzen, eine wenig ausgesprochene Dosis-Wirkungsbeziehung aufweist.

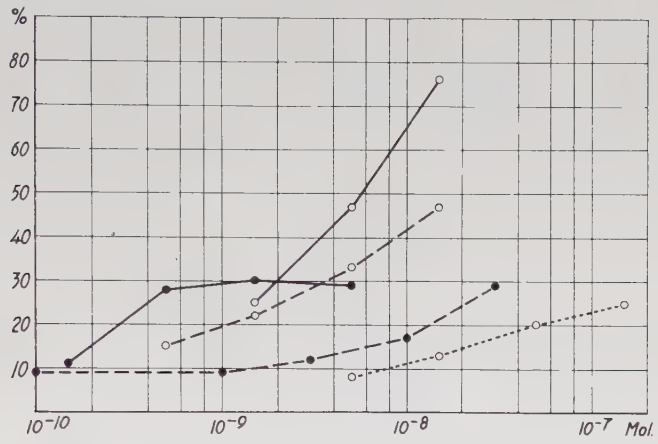

FIG. 1

Entzündliche Hautreaktion nach intracutaner Applikation von
○———○ Serotonin-Kreatininsulfat.
○ – – – –○ Compound 48/80.
○ – – – – ○ Histamin-Base.
●———● Trypsin.
●– – – –● Bradykinin.
Ordinate: Intensität der Entzündung berechnet aus den Gewichten der Hautstücke G und G_0 in % (siehe Methodik, Seite 167)
Abszisse: Mol pro 0,05 ml Injektionsvolumen.

Verglichen mit Bradykinin erweist sich Trypsin als die wesentlich aktivere entzündungserregende Substanz, indem Trypsin bereits mit 5×10^{-10} Mol einen ähnlichen Effekt (etwa 30 %ige Gewichtszunahme) erzeugt wie Bradykinin mit 3×10^{-8} Mol. Durch Erhöhung der Trypsindosis kann im übrigen auffallenderweise keine weitere Wirkungssteigerung erzielt werden; auch Bradykinin besitzt eine ausgesprochen flache Dosiswirkungskurve.

Für die PCA wurde keine Dosiswirkungskurve ermittelt, sondern eine Antikörpermenge mit einer Entzündungsintensität entsprechend I_0 für $1{,}5 \times 10^{-8}$ Mol Compound 48/80 oder 5×10^{-9} Mol Serotonin benutzt, was für die Berechnung der Beeinflussbarkeit durch antagonistisch wirkende Substanzen genügte.

B. *Einfluss von Gegenionen*

Ferner ist es notwendig, zu wissen, ob Komponenten der Lösung wie salzbildende Ionen etc. einen Einfluss auf die Reaktion besitzen.

Die entzündliche Wirkung von Histamin ist, gleichgültig ob es als Base, Dihydrochlorid oder Diphosphat verwendet wird, praktisch dieselbe, wenn die molare Amindosis berücksichtigt wird (Fig. 2). Aehnliches gilt auch für Serotonin, das als Kreatininsulfat die gleiche Wirkungsintensität besitzt wie als Monohydrochlorid. Dies stimmt mit dem Befund überein, dass für Serotonin auch am isolierten Meerschweinchenileum kein Einfluss der Gegenionen nachgewiesen werden kann. (Unveröffentlichte Versuche).

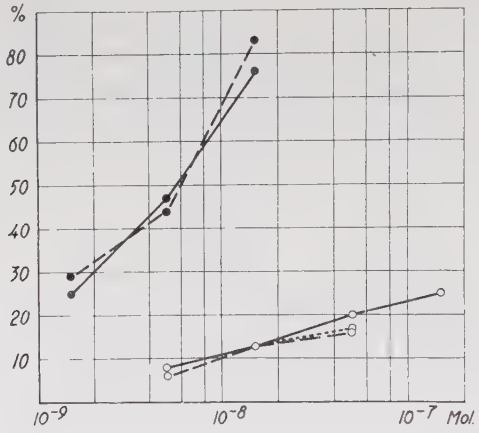

Fig. 2

Einfluss verschiedener Gegenionen.
●——● Serotonin-Kreatininsulfat.
●– – –● Serotonin-Monohydrochlorid.
○——○ Histamin-Base.
○– – –○ Histamin-Dihydrochlorid.
– – – –○ Histamin-Diphosphat.
Ordinate: Intensität der Entzündung in %.
Abszisse: Mol pro 0,05 Injektionsvolumen.

C. *Einfluss des Injektionsvolumen*

Eine weitere wichtige Feststellung betrifft die Bedeutung des Injektionsvolumens für die ausgelöste Reaktion. Bei Benützung von Compound 48/80 als entzündungsauslösende Substanz zeigt sich, dass im Bereich der geprüften Injektionsvolumina (0,01–0,1 ml) die Wirkung von Compound 48/80 nur proportional der absoluten Menge des Agens zunimmt und somit unter den gewählten Versuchsbedingungen vom Initialvolumen unabhängig ist (Fig. 3).

In höheren Konzentrationen ändern sich die vaskulären Reaktionen auf Serotonin und Histamin, und es tritt auch bei Compound 48/80

das von MILES und MILES [22] beschriebene „bleaching", eine Gefässkonstriktion im Zentrum des Reaktionsgebietes auf.

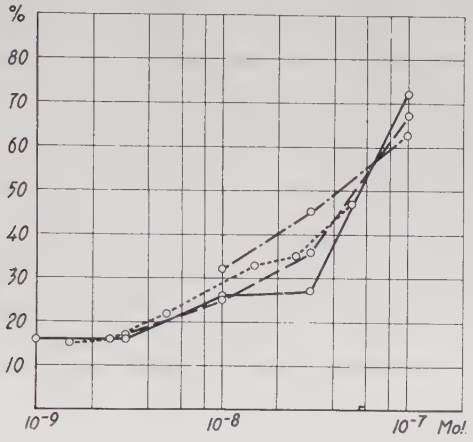

FIG. 3

Einfluss des Injektionsvolumens bei der durch Compound 48/80 hervorgerufenen Entzündungsreaktion.

○———○ 0,01 ml Injektionsvolumen
○– – – –○ 0,03 ml ”
○– – – – –○ 0,05 ml ”
○– · – · – 0,10 ml ”

Ordinate: Intensität der Entzündung in %.
Abszisse: Mol pro Injektionsvolumen.

II. *Wirkung ausgewählter Substanzen auf die entzündliche Hautreaktion*

A. *Beeinflussung der durch Compound* 48/80 *ausgelösten Hautreaktion (*TAB. I*)*

Bei der Beurteilung der Wirksamkeit und des Wirkungscharakters einer Hemmsubstanz ist die Dosisgrösse, die Form der Dosiswirkungskurve und ihre Ausdehnung bis zur völligen Hemmung bei nicht toxischen Dosen zu berücksichtigen.

Da die antagonistische Beeinflussbarkeit der durch Compound 48/80 ausgelösten Reaktion innerhalb gewisser Grenzen variiert, besitzen Substanzen, die dieses Entzündungsmodell um weniger als 20 % zu hemmen vermögen, nur untergeordnete Bedeutung. Zu den kaum als wirksam zu erachtenden Substanzen gehört DFP (Diisopropylfluorophosphonat).

Von den untersuchten Substanzen zeigt andererseits Methysergid (Deseril®) absolut die beste antagonistische Aktivität, indem schon 0,1 mg/kg die Hautreaktion um 24 % hemmt. Durch Steigerung der

TABELLE I

Antagonistische Aktivität (1) *von verschiedenartigen Substanzen auf die durch Compound 48/80 ausgelöste entzündliche Hautreaktion*

Präparat	Applikation	Zeitintervall	Dosis in mg/kg								
			0,1	0,3	1,0	3,0	10	30	100	300	600
Tripelennamin	s.c.	−30′		5	30	56	77				
Antazolin	s.c.	−30′				17	66	62			
Methysergid	s.c.	−60′	24	39	58	39					
Aminopyrin	s.c.	−30′						26	52		
Phenylbutazon	i.m.	−30′							0	26	
Salicylsäure, Na-Salz	s.c.	−30′							0	38	40
Prednisolon	i.p.	−180′					12	24			
Hydrocortison	i.p.	−180′					0	19			
Reserpin	s.c.	−120′			25	58					
Reserpin	s.c.	−20 h			39	65					
Hydralazin	s.c.	−30′				33	47				
Morphin	s.c.	−30′				33					
DFP	i.m.	−30′			1	7					
Iproniazid	s.c.	−60′							0		

(1) %

Dosis auf 0,3 bzw. 1 mg/kg kann eine entsprechend stärkere Hemmung erzielt werden, während 3 mg/kg möglicherweise infolge von unspezifischen Nebenwirkungen gleich wie 0,3 mg/kg wirken. Ein typisches Antihistaminicum wie Tripelennamin (Pyribenzamin®) hemmt in Dosen ab 1 mg/kg und zeigt eine dosisabhängige Wirkungssteigerung bis zur höchsten geprüften Dosis von 10 mg/kg. Die Hemmung beträgt hier 77 %. Antazolin (Antistin®) wirkt entsprechend seiner geringeren Histamin-antagonistischen Aktivität etwa 5 mal schwächer als Tripelennamin.

In eher hohen Dosen wirkt auch Reserpin (Serpasil®) hemmend, wobei durch eine Variation der Einwirkungsdauer — soweit geprüft — keine wesentliche Veränderung des Hemmeffektes zu erzielen ist.

In einer weiteren Gruppe von bezüglich ihres Hemmeffektes ähnlich wirksamen Substanzen finden sich trotz pharmakologisch verschiedenem Wirkungsmechanismus Morphin und Hydralazin (Apresolin®), die mit einer Dosis von 3 mg/kg mehr als 30 % hemmen.

Eine schwache Wirkung zeigen die Corticosteroide Prednisolon und Hydrocortison in Dosen von 30 mg/kg. In niedrigeren Dosen sind sie wirkungslos.

Unter den geprüften Antiphlogistica sticht Aminopyrin hervor, das schon in Dosen ab 30 mg/kg zu einer Abschwächung der Reaktion führt. Na-Salicylat und Phenylbutazon wirken unter sich verglichen in diesem Test etwa gleich, jedoch deutlich schwächer als Pyramidon.

Durch Vorbehandlung mit relativ hohen Dosen (100 mg/kg) eines Aminoxydasehemmers (Iproniazid = Marsilid®) lässt sich keine Hemmung erzielen.

B. *Beeinflussung der durch passive cutane Anaphylaxie (PCA) ausgelösten Hautreaktion* (Tab. II)

Gleich wie die durch Compound 48/80 ausgelöste Reaktion zeigt auch die PCA bezüglich ihres Ansprechens auf eine antagonistisch wirksame Substanz verhältnismässig grosse Schwankungen. Unter den geprüften Substanzen besitzen deshalb Tripelennamin und Hydralazin eine kaum als wirksam zu erachtende Aktivität, indem Tripelennamin die PCA mit 1 mg/kg gar nicht und mit 3 mg und 10 mg/kg nur zu ungefähr 20 % zu hemmen vermag. Aehnliches gilt für Hydralazin.

Methysergid erweist sich auch hier als der absolut wirksamste Antagonist, indem mit 0,3 mg kg schon eine Hemmung von 38 % erreicht wird, die durch Erhöhung der Dosis auf 1 mg/kg bis auf 56 % gesteigert werden kann. Aehnlich wie bei der durch Compound 48 80 ausgelösten Hautreaktion kann durch eine weitere Steigerung der Methysergiddosis

TABELLE II

Antagonistische Aktivität (1) *von verschiedenartigen Substanzen auf die durch passive cutane Anaphylaxie ausgelöste entzündliche Hautreaktion*

Präparat	Applikation	Zeitintervall	Dosis in mg/kg							
			0,3	1,0	3,0	10	30	100	300	600
Tripelennamin	s.c.	−30′		3	22	18				
Methysergid	s.c.	−60′	38	56	56					
Aminopyrin	s.c.	−30′					98	99		
Phenylbutazon	i.m.	−30′						52	66	
Salicylsäure, Na-Salz	s.c.	−30′						48	51	71
Prednisolon	i.p.	−180′				0	71			
Hydrocortison	i.p.	−180′				5	53			
Reserpin	s.c.	−2 h		17	47					
Reserpin	s.c.	−24 h		34	31					
Hydralazin	s.c.	−30′			6	17				
Morphin	s.c.	−30′		32	70					
DFP	i.m.	−30′		0	46					
Pentylhydrazin (CIBA 22679-Ba)	i.p.	−30′				73	72			
Trihydroxyäthylrutinosid	s.c.	−120′						48	74	
Heparin	s.c.	−120′				67	71			
		−30′					15			

(1) %

jedoch keine entsprechende Verbesserung des Effektes erzielt werden.

Die bezüglich ihres pharmakologischen Wirkungstypus uneinheitliche Gruppe von Morphin, Reserpin und DFP zeigt im Bereich der geprüften Dosen eine formal ähnliche Hemmwirkung. Bei Morphin, das in einer Dosis von 1 mg/kg eine antagonistische Aktivität von 32 % besitzt, steigt die Wirkung mit 3 mg/kg um mehr als das Doppelte. Reserpin zeigt eine je nach Dosis und Einwirkungszeit unterschiedliche Hemmwirkung; ein guter Effekt wird entweder durch höhere Dosen (3 mg/kg) bereits innert kürzerer Zeit (2 Stunden) oder aber durch niedrigere Dosen nach längerer Zeit (24 Stunden) erreicht. Im Gegensatz zu den Ergebnissen an der Compound 48/80 Reaktion wirken höhere Reserpindosen bei der PCA nach längerer Einwirkungsdauer eher schlechter als nach kürzerer. DFP hemmt mit 1 mg/kg nicht, erreicht aber mit 3 mg/kg eine Aktivität von 46 %, was der Wirkung von 3 mg/kg Reserpin bei einem Zeitintervall von 2 Stunden gleichkommt.

Die geprüften Corticosteroide (Hydrocortison, Prednisolon) wirken ungefähr 10 mal schwächer als die letztgenannten Substanzen. Während sie auch an diesem Entzündungsmodell in einer Dosis von 10 mg/kg noch unwirksam sind, vermögen sie in einer solchen von 30 mg/kg die Hautreaktion um mehr als 50 % zu hemmen.

In der Gruppe der Antiphlogistica ist wiederum Aminopyrin bemerkenswert, indem schon 30 mg/kg die anaphylaktische Hautreaktion praktisch ganz zu unterdrücken vermögen. Phenylbutazon besitzt eine dem Na-Salicylat vergleichbare Aktivität; beide Präparate vermögen in einer Dosis von 100 mg/kg die Reaktion um ungefähr 50 % zu hemmen und entfalten mit höheren Dosen eine entsprechend stärkere Wirkung.

Trihydroxyäthylrutinosid, ein Stoff aus der Gruppe der Flavonoide, der nur an der PCA untersucht wurde, zeigt eine ähnliche Wirksamkeit wie die Antiphlogistica Phenylbutazon und Na-Salicylat.

Zwei weitere Substanzen (Pentylhydrazin, Heparin), die ebenfalls nur an der PCA auf ihre antagonistische Wirkung geprüft wurden, verhindern trotz eines pharmakologisch völlig verschiedenen Wirkungstypus die Entwicklung der Hautreaktion im gleichen Dosisbereich in vergleichbarem Mass: Der Aminoxydasehemmer Pentylhydrazin und das Anticoagulans Heparin hemmen in Dosen von 10 bzw. 30 mg/kg die Reaktion um etwa 70 %. Dabei muss jedoch Heparin 2 Stunden vor Auslösung der Reaktion verabreicht werden; 30 Minuten vor der Auslösung injiziertes Heparin hemmt die PCA nicht, obwohl zum Zeitpunkt der Messung der Reaktion eine deutliche Anticoagulanswirkung feststellbar ist.

TABELLE III

Antagonistische Aktivität (1) *von verschiedenartigen Substanzen auf die durch Serotonin ausgelöste entzündliche Hautreaktion*

Präparat	Applikation	Zeitintervall	Dosis in mg/kg							
			0,3	1,0	3,0	10	30	100	300	600
Tripelennamin	s.c.	−30′			8	16				
Methysergid	s.c.	−60′	99	97						
Aminopyrin	s.c.	−30′					23	55		
Phenylbutazon	i.m.	−30′						43	45	
Salicylsäure, Na-Salz	s.c.	−30′							40	43
Hydralazin	s.c.	−30′			59	82				

(1) %

C. *Beeinflussung der durch Serotonin und Histamin ausgelösten Hautreaktion (*Tab. III *und* IV*)*

Die durch Serotonin ausgelöste entzündliche Hautreaktion wird schon durch 0,3 mg/kg Methysergid total gehemmt, während sie durch 3 bzw. 10 mg/kg Tripelennamin kaum beeinflusst wird.

Neben Methysergid besitzt Hydralazin gegenüber dem durch Serotonin erzeugten Hautödem eine hohe Wirksamkeit, indem 3 mg/kg eine Hemmung von 59 %, 10 mg/kg eine solche von 82 % bewirken.

Innerhalb der Gruppe der Antiphlogistica sind unter den gewählten Versuchsbedingungen keine starken Unterschiede festzustellen. Aminopyrin und Phenylbutazon bewirken in Dosen von 100 mg/kg eine rund 50 %ige Hemmung des Serotonineffektes, während von Na-Salicylat für eine vergleichbare Wirkung 300–600 mg/kg notwendig sind.

Tabelle IV

Antagonisten-Aktivität A(1) *auf die durch Histamin ausgelöste entzündliche Hautreaktion*

Präparat	Dosis	Zeitintervall	A
Tripelennamin	10 mg/kg s.c.	— 30′	90
Methysergid	1 mg/kg s.c.	— 60′	18

(1) %

Da die Intensität der an der Ratte mit Histamin erzeugten entzündlichen Hautreaktion an und für sich schon gering ist, wurde nur die Wirkung eines Antihistaminicums und eines Serotoninantagonisten geprüft. Während Tripelennamin mit 10 mg/kg eine antagonistische Aktivität von 90 % besitzt, erreicht Methysergid in einer Dosis von 1 mg/kg nur eine solche von 18 %, d.h., die durch Histamin ausgelöste Reaktion wird durch ein Antihistaminicum deutlich, dagegen durch relativ hohe Dosen eines Serotoninantagonisten kaum beeinflusst.

Die antagonistische Beeinflussbarkeit der nach intracutaner Injektion von Trypsin und Bradykinin erfolgenden entzündlichen Hautreaktion wurde nicht untersucht. Beide Substanzen besitzen bei intracutaner Injektion und bei Anwendung der gravimetrischen Methode eine relativ geringe Entzündungsintensität, die beispielsweise den von Stürmer und Cerletti [40] für Bradykinin beschriebenen Effekt an der Rattenpfote nicht erreicht. Um mit Bradykinin die gleiche Wirkung wie mit Trypsin

zu erhalten, ist im Vergleich zu Trypsin eine 60 mal höhere Konzentration notwendig. Dies ist insofern erstaunlich, als intracutan appliziertes Bradykinin die Kapillarpermeabilität, gemessen am Farbstoffaustritt, bereits in viel niedrigeren Konzentrationen deutlich erhöht. Die Verwendung von 5×10^{-9} Mol Trypsin führt zudem zu Nekrosen der Epidermis und zum Austritt von Oedemflüssigkeit, was eine Beurteilung antagonistischer Effekte erschwert.

Besprechung der Ergebnisse

Entzündliche Hautreaktionen, wie sie durch Compound 48/80, passive cutane Anaphylaxie, Serotonin oder Histamin ausgelöst werden, zeichnen sich insbesonders durch eine gesteigerte Gefässpermeabilität und ein mehr oder weniger intensives Oedem aus. In der vorliegenden Arbeit wurde vor allem die ödematöse Komponente der Hautentzündung untersucht, indem die betroffenen Hautstellen ausgestanzt und gewogen wurden.

Zur Kontrolle der Identität der Oedemverhältnisse wurden die ausgestanzten Hautstücke 24 Stunden bei 90° C getrocknet und die Flüssigkeitszunahme von Test- und Kontrollhaut als Differenz von Nass- und Trockengewicht ermittelt und verglichen. Eine statistische Auswertung bestätigte die Befunde von Ungar [43]. Zwischen Resultaten, die aus der Differenz von Nass- und Trockengewicht und solchen, die auf Grund des Nassgewichtes erhalten werden, bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Compound 48/80 zeigt bezüglich der Oedembildung eine Dosiswirkungskurve, die stärkere Aehnlichkeit mit derjenigen von Serotonin besitzt als mit der von Histamin. Die Dosiswirkungskurve von Histamin besitzt einen ausgesprochen flachen Verlauf. Für die Ratte ist bekannt, dass 1 g Haut ca. 1–2 γ Serotonin und eine etwa 10 fach höhere Histaminmenge enthält [30]. Serotonin besitzt noch in mehr als 10 fach niedrigerer Konzentration eine viel stärkere ödemauslösende Fähigkeit als Histamin. Es ist deshalb anzunehmen, dass Compound 48/80 ähnlich wie bei anderen Versuchsanordnungen auch die Hautentzündung bei der Ratte durch eine Freisetzung von Serotonin neben Histamin bewirkt, wobei dem Serotonin bei dieser Reaktion die wesentlichere Rolle zukommt.

Auf Grund der Ergebnisse, die eine Hemmung der Reaktion durch Antagonisten festhalten, ist zur Frage Stellung zu nehmen, inwieweit die Reaktionen auf Mediatoren zurückgeführt werden können, und welche Unterschiede zwischen den durch verschiedene Agentien ausgelösten Reaktionen bestehen.

Die relativ starke antagonistische Aktivität von Methysergid, einem spezifischen Serotonin-Antagonisten, weist auf die bevorzugte Beteiligung von Serotonin hin. Der gleiche Antagonist hemmt auch die PCA-Reaktion stark, was ebenfalls auf eine verhältnismässig wichtige Rolle des Serotonins bei der PCA an der Ratte hinweist.

Die durch PCA oder Compound 48/80 ausgelösten Hautreaktionen werden durch Methysergid aber nicht im gleichen Masse gehemmt wie eine durch injiziertes Serotonin erzeugte Entzündung. Es müssen somit bei der PCA wie bei der durch Compound 48/80 erzeugten Reaktion neben Serotonin andere ödemwirksame Komponenten auftreten. Allerdings haben PARRATT und WEST [29, 30] gezeigt, dass zugeführte Mediatoren durch Antagonisten leichter gehemmt werden können als endogene Mediatoren nach ihrer Freisetzung.

In Dosen, die eine Serotoninwirkung kaum beeinflussen, bewirkt Tripelennamin eine fast gänzliche Unterdrückung der Histaminreaktion, aber auch eine beträchtliche Hemmung der durch Compound 48/80 erzeugten Entzündung. Dies könnte als Hinweis auf eine Histaminfreisetzung durch Compound 48/80 aufgefasst werden, wenn nicht zugeführtes Histamin sich an der Ratte als sehr wenig ödemwirksam erweisen würde. Die PCA ist ähnlich wie die Serotoninreaktion durch ein Antihistaminicum kaum zu beeinflussen. Die bei der PCA und nach Compound 48/80 auftretenden Reaktionsprodukte dürften somit zum Teil verschieden und nicht vollständig mit Serotonin und Histamin identisch sein. Zu ähnlichen Schlüssen kamen auch BROCKLEHURST *et al.* [5], die als Antihistaminicum Mepyramin verwendeten. Die von OVARY [27] beobachtete Hemmung der PCA durch Mepyramin steht dazu allerdings im Gegensatz.

Auf Grund der Ergebnisse mit anderen Antagonisten ergeben sich auch Hinweise auf zusätzliche Reaktionskomponenten. Die Antiphlogistica Na-Salicylat, Phenylbutazon und insbesondere Aminopyrin sind bessere Hemmer der PCA als der durch Compound 48/80 oder Serotonin erzeugten Entzündung. Gewisse Antiphlogistica wie Salicylat vermögen nach SULLIVAN [41] auch die Vereinigung von Antigen mit Antikörper und nicht nur die durch die allergische Reaktion freigesetzten Wirkstoffe zu hemmen. Bei Salicylat ist in Analogie zu den Befunden von WEIMAR [45] ferner eine Wirkung auf aktivierte proteolytische Systeme denkbar.

Die Wirkung des Morphins, das die PCA bedeutend besser hemmt als die Compound 48/80-Reaktion, könnte einerseits dadurch zustande kommen, dass Morphin cutane Amine freisetzt und damit zu einer Verminderung der zur Verfügung stehenden endogenen Wirkstoffe

führt. Andererseits wäre eine Stimulierung der Nebennieren mit Freisetzung von Catecholaminen und/oder Steroiden ebenso gut möglich und würde ebenfalls auf zusätzliche Komponenten bei der komplexen PCA hinweisen.

Corticosteroide hemmen die PCA stärker als die Reaktion nach Compound 48/80. Der Steroideffekt ist deshalb weniger auf durch Compound 48/80 freigesetzte Amine als auf andere Stoffe gerichtet, die bei der PCA entstehen. Von Schäfer *et al.* [34] ist beschrieben worden, dass Steroide die antitryptische Aktivität des Serums von Ratten erhöhen.

Zu den bei der PCA möglicherweise beteiligten Faktoren gehören u.a. proteolytische Fermentsysteme; in diese Richtung weist die Wirksamkeit des Esterasehemmers DFP. Der von Spector und Willoughby [38] mit DFP am Modell des Verbrennungsoedems festgestellte Hemmeffekt findet sich wieder am Beispiel der allergischen Hautentzündung, während die durch Compound 48/80 erzeugte Reaktion unbeeinflusst bleibt. Obwohl von Uvnäs [44] gezeigt wurde, dass auch die Histaminliberation durch Compound 48/80 als Folge einer Fermentaktivierung (Lecithinase) aufgefasst werden kann, geht aus der hier mitgeteilten unterschiedlichen Beeinflussbarkeit der PCA und der Compound 48/80-Reaktion hervor, dass die jeweils beteiligten Enzymsysteme nicht identisch sein können. Eine ähnliche Deutung könnte auch für Aminoxydasehemmer gelten, die nur die allergische Hautreaktion beeinflussen und auch in den Versuchen von Spector und Willoughby [39] einen Hemmeffekt auf das Verbrennungsödem besitzen.

Als weitere Erklärung für die Wirkung von DFP und als Teilkomponente der Wirkung anderer hier untersuchten Antagonisten wäre auch eine Beeinflussung von Komplement möglich. DFP hemmt verschiedene Esterasen, von denen in Zusammenhang mit den vorliegenden Versuchen besonders Chymotrypsin und gewisse Fraktionen des Komplements interessieren. Wie Ratnoff und Lepow [31] beschrieben haben, vermag DFP die Wirkung von C'1 der Ratte zu hemmen.

Der antagonistische Effekt von Apresolin gegenüber der Reaktion nach Compound 48/80 und die starke Wirkung gegenüber Serotonin können eine gewisse Beteiligung des Blutdrucks beim Zustandekommen dieser Reaktionen vermuten lassen. Eine Senkung des Blutdrucks kann als alleiniger Faktor nicht die beobachteten Hemmeffekte erklären, da Reserpin sowohl die PCA wie die Compound 48/80-Reaktion hemmt, Hydralazin dagegen nur die PCA. Solche Unterschiede zwischen Hydralazin und Reserpin sind u.a. auch durch eine verschiedene Beeinflussung der gewebsständigen Amine zu erklären.

Die Hemmung der PCA durch Rutin, ein Bioflavonoid, weist darauf hin, dass ein antiinflammatorischer Effekt auch durch Herabsetzung der Kapillarpermeabilität erzielt werden kann und bestätigt damit den von SALGADO und GREEN [33] an einem anderen Entzündungsmodell erhobenen Befund.

Der Wirkungsmechanismus von Heparin ist noch unklar. Inwiefern der von JANCSÓ [15] beschriebene Anticoagulanseffekt und Fibrinverlust bei Bestehenbleiben einer hyperämischen Reaktion mit eine Rolle spielt, kann durch die vorliegenden Versuche nicht entschieden werden. Heparin ist bei einer Einwirkungszeit von nur 30′ wirkungslos. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass nach 30 minutiger Einwirkungszeit, d.h. zum Zeitpunkt der Auslösung der Reaktion, die antikomplementäre Wirkung von Heparin noch nicht ihren vollen Wirkungsgrad erreicht hat. Auf die Bedeutung von Komplement für das Zustandekommen einer PCA haben insbesondere BIER *et al.* [3] sowie OSLER *et al.* [25] hingewiesen.

Auch wenn von der detaillierten Interpretation der Ursachen der Reaktion abgesehen wird, besteht zwischen den beiden gewählten Entzündungstypen (Compound 48/80, PCA) ein prinzipieller Unterschied, der aus der Reihenfolge der Wirkung der untersuchten Antagonisten ersichtlich ist:

Compound 48/80-Reaktion

bei 30 % ± 10 % Deseril > Pyribenzamin ≅ Serpasil > Morphin ≅ Apresolin ≅ Antistin > Prednisolon ≅ Hydrocortison ≅ Pyramidon > Na-Salicylat ≅ Butazolidin

bei 60 % ± 10 % Deseril > Pyribenzamin ≅ Serpasil > Antistin > Pyramidon

PCA — Reaktion

bei 30 % ± 10 % Deseril > Morphin > Serpasil ≅ DFP > Prednisolon ≅ Hydrocortison

bei 60 % ± 10 % Deseril > Morphin > Pentylhydrazin ≅ Heparin > Prednisolon > Rutin ≅ Butazolidin > Na-Salicylat

über 90 % Pyramidon

Ganz allgemein zeigt sich somit, dass jede indirekt ausgelöste Lokalreaktion durch ein mehrere oder viele Mediatoren umfassendes, für jeden Fall aber charakteristisches Spektrum von Mediatoren zustande kommt. Daraus ergeben sich Konsequenzen für die weitere Analyse solcher indirekt zustande kommenden Reaktionsabläufe.

Summary

1. A gravimetric method is described which makes it possible to evaluate quantitatively the oedematous reaction following intracutaneous introduction of an inflammatory agent into rat skin.

2. The inflammatory skin reactions provoked by serotonin, histamine, compound 48/80, passive cutaneous anaphylaxis (PCA), trypsin and bradykinin are analysed and compared, both qualitatively and quantitatively.

3. The inflammatory reaction shows a direct dose-response relationship with each of the investigated agents. The slope of the dose-response curve varies in a manner characteristic of each type of substance. The phlogogenic activity of the substances studied decreases in the following order : serotonin > compound 48/80 > bradykinin > histamine.

Variations in the counter-ion as well as in the injection volume do not influence the intensity of the inflammatory reaction when equimolar amounts of the agent are compared.

4. The inflammatory reactions studied can be inhibited to a greater or lesser extent by substances of differing pharmacodynamic activity. By comparing the inhibitory action of selected antagonists, conclusions can be drawn as to the importance of endogenous reaction components. The skin reactions provoked by serotonin and histamine are satisfactorily inhibited by their respective specific antagonists. Of the skin reactions resulting from a "liberation" of endogenous active principles, the PCA is comparatively more easily inhibited than the reaction produced by compound 48/80. Moreover, PCA is inhibited by a wider range of antagonists.

5. The varying inhibitory activity of antagonists in inflammatory reactions due to PCA or compound 48/80 can be used to characterise the "biochemical difference" between these types of reaction. The importance and significance of the components participating in the inflammatory response such as liberation of biogenous amines, activation of proteolytic enzymes and complement are discussed.

Literaturverzeichnis

1. — Benditt, E. P. und Rowley, D. A. *Science*, 1956, *123*, 24.
2. — Beraldo, W. T. *Amer. J. Physiol.*, 1950, *163*, 283.
3. — Bier, O. G., Siqueira, M. und Osler, A. G. *Int. Arch. Allergy*, 1955, *7*, 1-9.
4. — Bovet, D., Horelois, R. und Walthert, F. *C. R. Soc. Biol.*, 1944, *138*, 99.
5. — Brocklehurst, W. E., Humphrey, J. H. und Perry, W. L. M. *J. Physiol.*, 1955, *129*, 205-224.
6. — Brocklehurst, W. E., Humphrey, J. H. und Perry, W. L. M. *J. Physiol.*, 1960, *150*, 489-500.
7. — Cerletti, A., Stürmer, E. und Konzett, H. *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, *86*, 678.
8. — Doepfner, W. und Cerletti, A. *Int. Arch. Allergy*, 1958, *12*, 89.
9. — Feldberg, W. und Talesnik, J. *J. Physiol.*, 1953, *120*, 550-568.

10. — Gross, F. *Schweiz. med. Wschr.*, 1950, *80*, 697.
11. — Gross, F. *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1950, *211*, 421-426.
12. — Halpern, B. N. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1942, *68*, 339.
13. — Halpern, B. N., Liacopoulos, P. und Briot, M. *C. R. Soc. Biol.*, 1956, *150*, 113.
14. — Jancsó, N. *Nature, Lond.*, 1947, *160*, 227-228.
15. — Jancsó, N. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1961, *13*, 577-594.
16. — Jaques, R. *Helv. Physiol. Acta*, 1953, *11*, C. 55-57.
17. — Kelemen, E. *Brit. J. Pharmacol.*, 1957, *12*, 28-29.
18. — Kewitz, H. und Morgan, K. *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1954, *223*, 399-407.
19. — Liacopoulos, P., Halpern, B. N. und Liacopoulos-Briot, A. *C. R. Soc. Biol.*, 1957, *151*, 1661.
20. — Meier, R. Biochemische Kausalzusammenhänge des Entzündungsvorganges. in : Medizinische Grundlagenforschung Bd. II, Georg Thieme, Stuttgart, 1959.
21. — Menkin, V. Biochemical Mechanisms in Inflammation. Ch. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1956.
22. — Miles, A. A. und Miles, E. M. *J. Physiol.*, 1952, *118*, 228-257.
23. — Mörsdorf, K. und Bode, H. H. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1959, *118*, 292-297.
24. — Mörsdorf, K. und Fehres, L. *Med. exp.*, 1959, *1*, 58-63.
25. — Osler, A. G., Hawrisiak, M. M. und Ovary, Z. *Fed. Proc.*, 1957, *16*, 428.
26. — Ovary, Z. *Int. Arch. Allergy*, 1952, *3*, 162-174.
27. — Ovary, Z. *Int. Arch. Allergy*, 1952, *3*, 293-301.
28. — Ovary, Z. Progress in Allergy, pag. 459 ff, S. Karger, Basel-New York, 1958.
29. — Parratt, J. R. und West, G. B. *Brit. J. Pharmacol.*, 1958, *13*, 65-70.
30. — Parratt, J. R. und West, G. B. *J. Physiol.*, 1958, *140*, 105-112.
31. — Ratnoff, O. D. und Lepow, I. H. *J. exp. Med.*, 1957, *106*, 327-343.
32. — Rowley, D. A. und Benditt, E. P. *J. exp. Med.*, 1956, *103*, 399-411.
33. — Salgado, E. und Green, D. M. *J. appl. Physiol.*, 1956, *8*, 647-650.
34. — Schäfer, E. H., Wabner, Ch. I., Blatt, W. F. und Jensen, H. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1958, *98*, 354-357.
35. — Sparrow, E. M. und Wilhelm, D. L. *J. Physiol.*, 1957, *137*, 51-65.

36. — Spector, W. G. und Willoughby, D. A. *Nature*, 1958, *181*, 708.
37. — Spector, W. G. und Willoughby, D. A. *J. Path. Bact.*, 1959, *77*, 1-17.
38. — Spector, W. G. und Willoughby, D. A. *J. Path. Bact.*, 1959, *78*, 121-132.
39. — Spector, W. G. und Willoughby, D. A. *Nature*, 1961, *189*, 489-490.
40. — Stürmer, E. und Cerletti, A. *Helv. Physiol. Acta*, 1961, *19*, C.32 — C.35.
41. — Sullivan, C. J., Parker, Th. W. und Hibbert, R. W. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1948, *67*, 508-511.
42. — Theobald, W. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1955, *103*, 17-26.
43. — Ungar, G., Kobrin, S. und Sezesny, B. R. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1959, *123*, 71-77.
44. — Uvnäs, B. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1958, *10*, 1-13.
45. — Weimar, V. *J. exp. Med.*, 1957, *105*, 141-152.
46. — Wilhelmi, G. und Domenjoz, R. *Arzneimittelforschung*, 1951, *1*, 151-154.